



**ARTÍCULO ORIGINAL**

**Efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Antibacterial *in vitro* effect of the watery extract of *Schinus molle* (molle) on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Merly Yerami Alfaro-Pérez<sup>1</sup>, Miguel Angel Ruiz-Barrueto<sup>2</sup>

1. Cirujano Dentista. Universidad Señor de Sipán. Chiclayo, Perú.
2. Maestro en Ciencias. Biólogo Microbiólogo. Universidad César Vallejo. Piura, Perú.  
Correo electrónico: [mruizb@ucv.edu.pe](mailto:mruizb@ucv.edu.pe)

**RESUMEN**

El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la determinación de la Concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). Fue una investigación experimental con diseño de estímulo creciente. El efecto antibacteriano fue evaluado mediante el método estandarizado de microdilución. El extracto acuoso se obtuvo por el método de ebullición. La cepa bacteriana fue adquirida liofilizada y fue reactivada en caldo Mueller-Hinton. Las hojas de *S. molle* (molle) fueron recolectadas del campus de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo e identificada en el Herbarium Piurense de la Universidad Nacional de Piura. Se evaluaron 10 concentraciones porcentuales del extracto acuoso de *S. molle* (molle), un control negativo solución salina fisiológica estéril (SSFE) y un control positivo penicilina 10 UI. Se realizaron 10 repeticiones de los ensayos. A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Duncan mediante el paquete estadístico SPSS v.22. La CIM se obtuvo al 40% y la CMB al 60% del extracto acuoso *S. molle* (molle). Hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos ( $p < 0,05$ ).

**Palabras clave:** *Schinus molle*, *Staphylococcus aureus*, extracto vegetal, *in vitro*.

**ABSTRACT**

The objective of the present investigation was to evaluate the *in vitro* antibacterial effect of the aqueous extract of *Schinus molle* (molle) on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (CMB). It was an experimental research with increasing stimulus design. The antibacterial effect was evaluated using the standardized microdilution method. The aqueous extract was obtained by the boiling method. The bacterial strain was acquired lyophilized and reactivated in Mueller-Hinton broth. The leaves of *S. molle* (molle) were collected from the campus of the Pedro Ruiz Gallo National University and identified in the Herbarium Piurense of the National University of Piura. Ten percentage concentrations of the aqueous extract of *S. molle* (molle), a negative control sterile physiological saline solution (SSFE) and a positive control penicillin 10 IU were evaluated. Ten repetitions of the tests were performed. The data obtained were analyzed by variance analysis (ANOVA) and the Duncan test using the statistical package SPSS v.22. The MIC was obtained at 40% and the CMB at 60% of the aqueous extract *S. molle* (molle). There was a statistically significant difference between treatments ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** *Schinus molle*, *Staphylococcus aureus*, plant extract, *in vitro*.

## INTRODUCCIÓN

El género *Staphylococcus* lo integran bacterias en forma de coco, grampositivas. Su proceso de división celular se da de tal modo que se disponen formando racimos.<sup>1</sup> Poseen amplia distribución en la naturaleza y no todos son patógenos humanos, pudiendo también ser encontrados en otros animales, alimentos y objetos inanimados.<sup>2</sup> En el hombre, estos microorganismos se establecen principalmente en la piel y sus manifestaciones clínicas se revelan con mayor o menor intensidad de acuerdo con la localización primaria o secundaria de la infección.<sup>3</sup> En pacientes hospitalizados, recién nacidos, mayores o inmunológicamente comprometidos con tratamientos de quimioterapia y radioterapia, esas manifestaciones tienden a ser de mayor importancia y, recientemente, una manifestación clínica clasificada como mucositis estafilocócica ha emergido entre esos pacientes.<sup>4</sup>

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Grampositiva, en forma de coco,  $\beta$  hemolítico en agar sangre, catalasa y coagulasa positivo, característica fenotípica que le permite diferenciarse del resto de estafilococos coagulasa negativos.<sup>5</sup> *S. aureus*, es un patógeno frecuente en humanos, causando una amplia gama de síndromes desde infecciones leves de piel y tejidos blandos hasta infecciones de rápido progreso que ponen en riesgo la vida del paciente como la neumonía necrotizante, sepsis severa y fascitis necrotizante.<sup>6</sup> La especie más representativa en la cavidad bucal es el *S. aureus*, su presencia como un componente de la flora oral es controversial y puede estar asociada a infecciones endodónticas, periodontales, periapicales e infecciones supurativas de las glándulas salivares, debajo de prótesis y en pacientes inmuno-comprometidos.<sup>7</sup>

*S. aureus* se ha aislado principalmente de saliva, y de la biopelícula supra y subgingival.<sup>8</sup> Cerca del 20 al 30% de los individuos sanos son portadores persistentes de *S. aureus* lo cual significa que se encuentran siempre colonizados por esta bacteria y 30% son portadores intermitentes (colonizadores transitorios).<sup>9</sup> La colonización aumenta significativamente el riesgo de infecciones por considerarse un reservorio del patógeno; las bacterias pueden introducirse en el organismo cuando las defensas del huésped están comprometidas.<sup>10</sup> *S. aureus*, es un microorganismo que posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos de uso clínico cuya diseminación es de gran importancia en salud pública y alarma a nivel mundial.<sup>11</sup>

Esta situación ha propiciado que los científicos en el mundo y especialmente los profesionales de las ciencias de la salud investiguen otras alternativas de control de microorganismos, que tengan los mismos beneficios que los antibióticos pero que no presenten el efecto colateral de la resistencia microbiana además que no sean agresivos con el medio ambiente. Es en este propicio momento que se vienen realizando estudios con un sinnúmero de plantas - que según investigaciones precedentes – se ha establecido que presentan propiedades curativas debido a los principios activos que contienen, pero esta información no es reciente, nuestros antepasados creían en los beneficios de las plantas medicinales y lo siguen creyendo hasta la actualidad. Las plantas han sido siempre una fuente indispensable para la obtención de productos beneficiosos en la historia de la humanidad.<sup>12</sup> Las antiguas civilizaciones usaron las especies vegetales tanto para fines alimenticios, como en medicina y cosmética.<sup>13</sup> En ese sentido, algunos de los productos con mayor relevancia histórica son las especias aromáticas, sus esencias y fragancias figuran en escritos tan memorables como el Génesis de la Biblia, que hace referencia de mercaderes madianitas que comercializaban aromas, bálsamo y mirra, posiblemente su peso en oro o plata; también, los egipcios, mesopotámicos, hindúes y chinos tenían vastos conocimientos sobre la extracción y uso de las esencias con las que fabricaban pomadas, bálsamos mortuorios e infusiones.<sup>14</sup>

El Perú es uno de los países con mayor biodiversidad en el mundo, muchas de sus especies vegetales pueden ser aprovechadas de forma sostenible por la industria, una clara alternativa es el *Schinus molle* L., un árbol nativo con aplicaciones medicinales, y propiedades farmacológicas comprobadas científicamente le dan características de insecticidas, antibacterianas y antifúngicas.<sup>15</sup> En la actualidad, se ha revalorado el campo de aplicación de las plantas y especias aromáticas, en farmacología y biotecnología; la investigación científica le abre un nuevo espacio a los extractos totales y sus componentes, evaluando su efecto antimicrobiano, por medio de ensayos *in vitro* y evaluaciones en tejidos vivos o en microorganismos. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto *in vitro* de diez concentraciones porcentuales del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (CMB) y de esta manera proponer una alternativa de control alternativo de microorganismos con el uso de la fitoterapia.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material de estudio

Las hojas de *Schinus molle* L. (molle) fueron recolectadas de árboles ubicados en el campus de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo ubicado en la localidad de Lambayeque, Perú. durante el periodo comprendido entre Julio y Diciembre del 2017. Las hojas colectadas fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Señor de Sipán en Chiclayo para su clasificación y procesamiento. La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue adquirida liofilizada a la empresa Gen Lab del Perú S.A.C. durante el año 2017 y fue proporcionada para el presente estudio por la coordinación de Laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Señor de Sipán.

### Colección y procesamiento del material vegetal

Se recolectaron ramas con hojas de los árboles de *Schinus mollis* (molle) ubicadas en las áreas verdes de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en Lambayeque. Se procuró que las hojas seleccionadas se encuentren en buen estado y no presenten características de ataque por fitopatógenos o artrópodos. Además no deben tener signos de clorosis y desecamiento. Las ramas fueron trasladadas al laboratorio de Microbiología de la Universidad Señor de Sipán en bolsas de Papel preparadas previamente. En el laboratorio las hojas fueron individualizadas y separadas de las ramas. Luego fueron lavadas y desinfectadas con alcohol al 70% y secadas a temperatura ambiente. Después del cual fueron colocadas en una estufa marca Binder a 50 °C durante 48 horas, después del cual se obtuvo el material vegetal seco.

### Preparación del extracto acuoso de *Schinus molle* L.(molle)

Luego de obtenido el material seco de *Schinus molle*, se procedió a realizar la molienda en mortero con pilón. El extracto acuoso fue obtenido por el método de ebullición. Las diez concentraciones fueron preparadas independientemente. Para ello se colocó en un vaso de precipitados la cantidad de agua suficiente para obtener cada concentración. El agua fue llevada a ebullición en una panel calefactor. Cuando el agua comenzó a hervir se le agregó la masa de material vegetal pesada previamente y correspondiente a cada volumen. Se le dejó hervir durante 2 minutos y luego el beacker fue retirado del panel. Una vez frío el extracto se procedió a realizar tres filtrados continuado con papel de filtro Whatman N° 1 y N° 2. Cada

concentración de extracto preparado fue depositado en un recipiente de vidrio color ambar hasta el momento de su utilización que fue en los siguientes 30 minutos.

### **Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y preparación del inóculo**

La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, fue una cepa liofilizada. Se reactivó en caldo Mueller-Hinton durante 24 horas a 36,5 °C en atmósfera de aerobiosis alcanzadas en una estufa marca BINDER. Después fue sembrada en viales con agar nutritivo bajo las mismas condiciones de cultivo para su preservación. El inóculo fue preparado siguiendo el método descrito por Kirby-Bauer.<sup>16</sup> A partir del cultivo puro de 24 horas de *Staphylococcus aureus* en medio sólido, se seleccionaron 2 colonias bien aisladas de igual morfología y se preparó una suspensión en 5 mL de solución salina fisiológica estéril. Esta suspensión alcanzó una turbidez comparable con la escala 0,5 del Nefelómetro de Mc Farland que corresponde a aproximadamente  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL. La turbidez adecuada fue verificada usando un espectrofotómetro marca UNICO UV-VIS modelo S-200, la absorbancia a 625 nm fue de 0,09 (el método recomienda que debe encontrarse entre 0,08 – 0,10). Dicho inóculo fue preparado 15 minutos antes de la realización de los ensayos.

### **Preparación de medios de cultivo**

El medio de cultivo utilizado fue caldo Mueller-Hinton de la empresa MERCK. Medio de cultivo recomendado para dicho método por el CLSI (Clinical and laboratory Standards institute).<sup>17</sup> Su preparación se realizó siguiendo todas las especificaciones del fabricante.<sup>18</sup>

### **Evaluación del efecto antibacteriano**

La técnica de microdilución en caldo se emplea para medir en forma cuantitativa la actividad *in vitro* de un agente antimicrobiano contra una bacteria. Para la presente evaluación se prepararon 4 microplacas de 96 pocillos con fondo en U, estériles. A cada columna de 8 pocillos se le agregó una concentración de extracto a evaluar, incluido los controles. A cada pocillo se le incorporó 50 µL de caldo Mueller-Hinton, 50 µL de la suspensión bacteriana preparada previamente y 50 µL de la concentración de extracto correspondiente. Las concentraciones de extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) fueron 0% (control negativo), 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% y penicilina 10 UI (control positivo). Después de la inoculación la microplaca fue incubada durante 24 horas a 36,5 °C

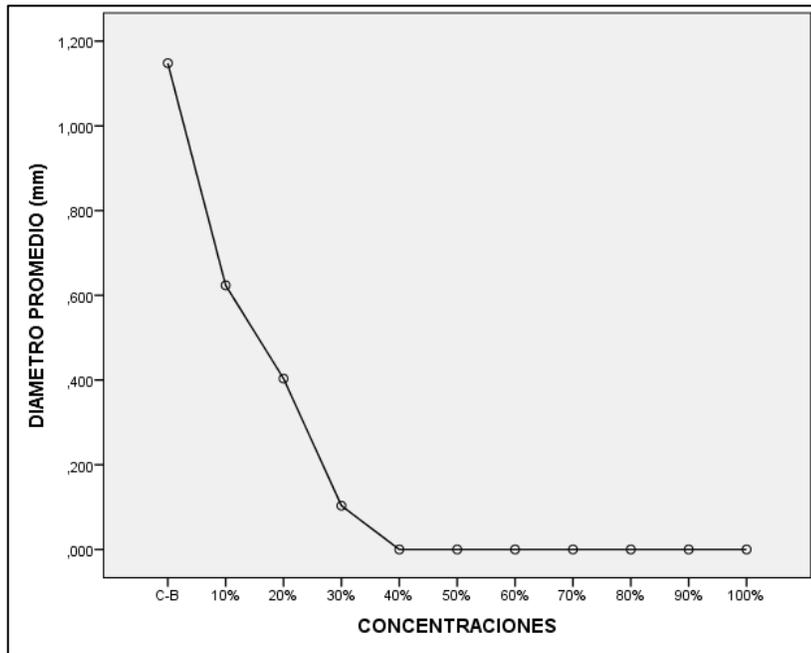
en aerobiosis, después de lo cual se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) y la concentración mínima bactericida (CMB) del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle), esta determinación se realizó evaluando los pocillos después del proceso de incubación. Se evaluó la formación de botón o turbidez en los pocillos. En aquellos donde no se observó crecimiento bacteriano se procedió a sembrar por dispersión en superficie de placas con agar Mueller-Hinton según Merck. Todo el proceso fue llevado a cabo en una cámara de bioseguridad Nivel II marca Angelantoni.

### **Lectura de resultados y análisis estadístico**

La mínima concentración en la cual ya no se observó desarrollo bacteriano, se determinó como la CIM y fue corroborada sembrando en superficies de placas con agar Mueller-hinton con ayuda de una micropipeta y asa de Drigalsky. Los siguientes pocillos donde no se observó crecimiento fueron sembrados igualmente para establecer la concentración mínima bactericida (CMB). La medición de los botones de crecimiento se realizó con ayuda del software LazES 3.0 de Leica Mycrosistem. Todos los datos recolectados fueron colocados en una ficha de recolección de datos diseñado para tal fin. Los datos obtenidos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS versión 22.0 con el cual se realizó el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de significancia de Duncan..

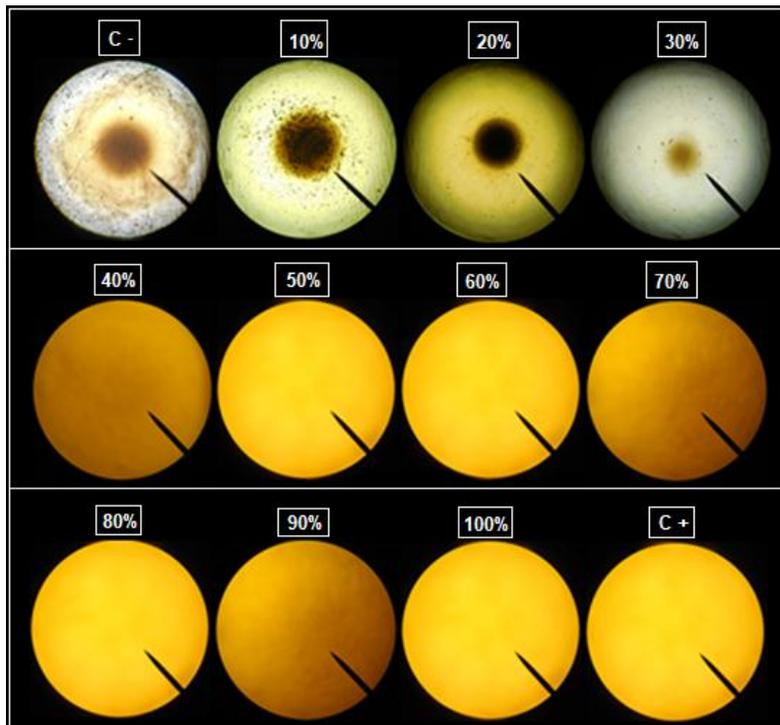
## **RESULTADOS**

Se determinó que de las concentraciones de 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle), la concentración mínima inhibitoria (CMI) de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue la de 40% y la concentración mínima bactericida (CMB) fue 60%. Lo cual se evidenció por la ausencia de botón de crecimiento en el pocillo correspondiente. A partir de esta concentración y hasta la concentración máxima evaluada (100%) no se observó crecimiento microbiano (Figura 1). La figura 2, muestra las microfotografías de los botones de crecimiento formados en los pocillos de la microplaca a las concentraciones evaluadas. Se observa la formación de botón de crecimiento en las concentraciones de 10%, 20% y 30% del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle). La tabla 1 muestra el análisis de varianza de los promedios del diámetro del botón de crecimiento de *S. aureus* a las concentraciones de 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% de infusión de *Schinus molle* (molle).



Fuente: Base de datos de experimentación.

**Figura 1.** Promedio de diámetros de botón de crecimiento *in vitro* de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 después de la exposición a las concentraciones de 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% de extracto acuoso de *S. molle* (molle).



Fuente: Fotografías en software LAZES 2.0 de Leica Mycosistem.

**Figura 2.** Microfotografía del crecimiento en botón de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 en los pocillos de las microplacas después del enfrentamiento a las concentraciones de 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% de extracto acuoso de *Schinus molle* (molle).

**Tabla 1.** Anova para contrastar la igualdad de medias de diámetro de botón de crecimiento de *Staphylococcus aureus* obtenidos después del enfrentamiento a las concentraciones de 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% y 100% de infusión de *Schinus molle* "molle".

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	F	Valor crítico para F
Intersección	2,360	1	2,360	570,752	
Concentraciones	7,044	10	,704	170,373	2,586
Error	,182	44	,004		
Total	9,585	55			

Fuente: Base de datos de experimentación.

## DISCUSIÓN

Cruz-Carrillo A, et al.<sup>18</sup> determinó las propiedades antibacterianas de cuatro especies vegetales, recolectadas en la ciudad de Tunja (Boyacá). Se prepararon extractos etanólicos, a partir de las hojas secas de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. Su efectividad antibacteriana fue evaluada sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*. Los extractos mostraron actividad contra *S. aureus*; la que exhibió la mejor actividad fue *B. pilosa* y *L. camara*, *S. molle* y *S. marianum* manifestaron capacidad moderada para inhibir el crecimiento de *S. aureus*. Este estudio demuestra que las plantas seleccionadas tienen actividad antibacteriana frente a *S. aureus* incluida *Shinus molle*. Estos resultados tienen relación con los obtenidos en el presente estudio pues se demostró el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Schinus molle* sobre una cepa estandarizada de *Staphylococcus aureus*. Respecto al efecto moderado que obtuvo Cruz-Carrillo pudo deberse a que el trabajó con una sepa aislada a partir de una muestra clínica y teóricamente se sabe que una cepa aislada tiene más desarrollado sus factores de virulencia en comparación a una cepa patrón como la que fue utilizada en el presente estudio. Por su parte, Vivot E, et al.<sup>19</sup> evaluó el efecto antibacteriano de varias plantas incluidas *Schinus fasciculatus*, especie vegetal del mismo género que *Schinus molle*. Reportando que

todas las plantas incluidas *Schinus fasciculatus* presentaron actividad antibacteriana in vitro sobre una cepa clínica de *Staphylococcus aureus meticolino* resistente. Lo que confirma que las plantas del género *Schinus* tienen compuestos bioactivos capaces de inhibir el desarrollo bacteriano de *Staphylococcus aureus*, los que las faculta para ser utilizadas como antibacterianos. Así mismo Torres J,<sup>20</sup> evaluó la actividad antimicrobiana de extractos orgánicos de *Luma chequen* “arrayán” frente a patógenos bacterianos aislados de hemocultivos y cepas controles ATCC entre las que se incluía *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Determinó que el extracto etanólico presentó la mayor actividad antimicrobiana frente a los patógenos evaluados. En cuanto a la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del extracto etanólico, los resultados más notorios fueron frente *Staphylococcus aureus* con una CMI de 3,125 mg/mL. Si bien es cierto la planta utilizada no tiene parentesco con *Schinus molle*, se considera este antecedente debido a que el extracto evaluado también fue probado sobre la misma cepa patrón del presente estudio.

Del mismo modo Mummé B, et al.<sup>21</sup>, evaluaron la actividad antibacteriana de nueve plantas etíopes incluido *Schinus molle* contra cuatro especies bacterianas entre las que se encontraba *Staphylococcus aureus*. Encontró que todas las plantas mostraron actividad antibacteriana considerable contra al menos una de las bacterias de prueba. Pero *Schinus molle* no mostró ninguna actividad inhibitoria. Estos resultados contrastan con los obtenidos en la investigación realizada. Esta diferencia de efectos pudo deberse al método de extracción y al lugar de obtención de las plantas. Pues se sabe que influye mucho las condiciones de cultivo de los vegetales para la producción de metabolitos secundarios que vienen a ser los compuesto bioactivos obtenidos en los extractos vegetales y que pueden presentar propiedades antibacterianas. Guerra-Boone L, et al.<sup>22</sup> Evaluó la actividad antibacteriana de los aceites de las hojas de *S. molle* y *M. grandiflora* contra *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, que causan infecciones en la piel que potencialmente pueden conducir a la sepsis. Encontró que las actividades antioxidantes de todos los aceites fueron pequeñas (la mitad de los valores de concentración máxima efectiva > 250 µg / mL). Estos resultados difieren con los obtenidos en el presente estudio. Principalmente porque las sustancias evaluadas son diferentes.

## CONCLUSIONES

- Las diferentes concentraciones del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) tienen efecto antibacteriano *in vitro* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 observado mediante la disminución del botón de crecimiento.
- La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 determinada *in vitro* mediante el método de microdilución en placa fue del 40%.
- La concentración mínima bactericida (CMB) del extracto acuoso de *Schinus molle* (molle) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 determinada *in vitro* mediante el método de microdilución en placa fue del 60%.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quispe G, Hilari L. Cocos Gram Positivos. Rev. Act. Clin. Med [revista en la Internet]. [citado 2018 Dic 09]. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2304-37682014001000004&lng=es](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014001000004&lng=es).
2. Pereira C, Das Neves E, Dos Santos J, Costa K. Papel de los Staphylococcus Spp. en la Mucositis oral: revisión de la literatura. Acta odontológica Venezolana. 2011; 49(3). Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2011/3/art-23/>
3. Bustos-Martínez J, Hamdan-Partida A, Gutiérrez-Cárdenas M. Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Revisión. Rev Biomed 2006; 17:287-305. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb061746.pdf>
4. López F, Oñate R, Roldán R, Cabrerizo C. Valoración de la mucositis secundaria a tratamiento oncohematológico mediante distintas escalas: Revisión. Med. oral patol. oral cir. bucal (Ed.impr.) [Internet]. 2005 Dic [citado 2018 Dic 09]; 10(5): 412-421. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1698-44472005000500006&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1698-44472005000500006&lng=es).

5. Mensa J, Soriano A, Linares P, et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter 2013; 26 (1):1-84. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/26/sup/guia.pdf>
6. Cataldo K, Toledo J, Fariña N, Pereira A, Rodríguez F, Guillen R, et al. Portación de *Staphylococcus aureus* multirresistentes a antimicrobianos en cavidad bucal de niños que concurren para un tratamiento en una clínica odontológica, Paraguay. Pediatr. (Asunción) [Internet]. 2014 Dec [cited 2018 Dec 09]; 41(3): 201-207. Disponible en: [http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1683-98032014000300004&lng=en](http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-98032014000300004&lng=en).
7. Cruz M, Díaz P, Arias D, Mazón G. Microbiota de los ecosistemas de la cavidad bucal. Rev Cubana Estomatol [Internet]. 2017 Mar [citado 2018 Dic 08]; 54(1): 84-99. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072017000100008&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072017000100008&lng=es).
8. Negroni M. Microbiología estomatológica. Fundamentos y Guía práctica. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
9. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab 2014; 61 (1): 28-40. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
10. Hernández V, Rodríguez C, Mildestein S, García P, Cabrera J. Mecanismos inmunológicos y de escape en la infección por bacterias grampositivas: el estafilococo dorado: Papel de las vitaminas y los minerales. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [Internet]. 2004 Abr [citado 2018 Dic 08]; 20(1). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000100003&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000100003&lng=es).
11. Guadalupe Miranda M. Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* en México. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. [revista en la Internet]. 2011 Ago [citado 2018 Dic 08]; 68(4): 262-270. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-11462011000400003&lng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462011000400003&lng=es).
12. Bandoni A, Retta D, Di Leo L, Baren C. ¿Son realmente útiles los aceites esenciales?. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas [Internet].

- 2009; 8(5):317-322. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85611977001>
13. Cortez-Gallardo V, Macedo-Ceja J, Hernández-Arroyo M, Arteaga-Aureoles G, Espinosa-Galván D, Rodríguez-Landa J. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. Rev Biomed 2004; 15:123- 136. Disponible en: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb041527.pdf>
14. Llanos S. Extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L.) [Tesis de título]. Tacna: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2012. 218 p. Disponible en: [https://datospdf.com/download/14-llanos-arapa-sk-fcag-industrias-alimentarias-2012-\\_5a4b843fb7d7bcab67d9dc33\\_pdf](https://datospdf.com/download/14-llanos-arapa-sk-fcag-industrias-alimentarias-2012-_5a4b843fb7d7bcab67d9dc33_pdf)
15. Clemente C. Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. “Molle” [Tesis de título]. Lima: Universidad Norbert Wiener; 2017. 91 p. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/530>
16. Bernal M, Guzman M. El antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de Kirby-Bauer. Biomédica 1984; 4 (3, 4). Disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/viewFile/1891/1917>
17. Cantón E, Martín E, Espinel-Ingroff A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). Revista Iberoamericana de Micología – 2007. ISBN: 978-84-611-8776-8. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
18. Cruz-Carrillo A, Rodríguez N, Rodríguez C. Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*. rev.udcaactual.divulg.cient. [Internet]. 2010 Dec [cited 2018 Dec 08]; 13(2): 117-124. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en).
19. Vivot E, Sanchez C, Cacik F, Sequin C. Antibacterial activity of medicinal plants in the flora of Entre Ríos (Argentina). Cienc. docencia tecnol. [online]. 2012, n.45 [citado 2018-12-08], pp.131-146. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-17162012000200008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-17162012000200008&lng=es&nrm=iso). ISSN 1851-1716.

20. Torres J. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayán” frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima – Perú [Tesis de titulación]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014. 130 p. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3605/Torres\\_cj.pdf;jsessionid=475339C2FB9D602DAB53087CCD0D9276?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3605/Torres_cj.pdf;jsessionid=475339C2FB9D602DAB53087CCD0D9276?sequence=1)
21. Mammed B, Abraha A, Feyera T, Nigusse A, Assefa S. Actividad antibacteriana in vitro de plantas medicinales seleccionadas en el tratamiento tradicional de infecciones de la piel y heridas en el este de Etiopía. *Biomed Res Int.* 2018 11 de julio; 2018: 1862401. Doi: 10.1155 / 2018/1862401.
22. Guerra-Boone L, Álvarez-Román R, Salazar-Aranda R, Torres-Cirio A, Rivas-Galindo V, Waksman N, González G, Pérez-López L. Las composiciones químicas y las actividades antimicrobianas y antioxidantes de los aceites esenciales de *Magnolia grandiflora*, *Chrysactinia mexicana* y *Schinus molle* se encuentran en el noreste de México. *Nat Prod Commun.* 2013 Ene; 8 (1): 135-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23472479>